

(案)

## 添加物評価書

# プロテイングルタミンナーゼ

2008年8月

食品安全委員会添加物専門調査会

## 目次

	頁
○審議の経緯 .....	3
○食品安全委員会委員名簿 .....	3
○食品安全委員会添加物専門調査会専門委員名簿 .....	3
○要 約 .....	4
I. 評価対象品目の概要 .....	5
1. 用途 .....	5
2. 名称 .....	5
3. 分子量 .....	5
4. 構造式 .....	5
5. 酵素活性規格 .....	5
6. 製造方法等 .....	5
7. 反応様式 .....	5
8. 性状等 .....	6
9. 性質 .....	6
10. 生産菌 .....	6
(1) 分類 .....	6
(2) 本品における残留性 .....	7
(3) 食品分野で使用されている類縁菌 .....	7
11. 評価要請の経緯 .....	7
12. 添加物指定の概要 .....	8
II. 安全性に係る知見の概要 .....	8
1. 生産菌の安全性 .....	8
(1) 非病原性の確認 .....	8
(2) 非毒素産生性の確認 .....	8
2. 酵素の消化管内での分解性等 .....	9
3. 酵素の毒性 .....	11
(1) 反復投与毒性 .....	11
(2) 遺伝毒性 .....	11
(3) アレルギー誘発性 .....	12
4. ヒトにおける知見 .....	14
5. 一日摂取量の推計等 .....	15
III. 国際機関等における評価 .....	15
1. JECFA における評価 .....	15
2. FDA における評価 .....	1615
3. EU における評価 .....	16
4. わが国における評価 .....	16

<別紙 1 : プロテイングルタミナーゼの 1 日推定摂取量の算出	
①本品により脱アミド化されたタンパク質素材が加工食品に添加される 場合> .....	17
<別紙 2 : プロテイングルタミナーゼの 1 日推定摂取量の算出	
②加工食品の製造工程で直接添加される場合> .....	18
<参照> .....	19

1 <審議の経緯>

2 2007年8月2日 厚生労働大臣から添加物の指定に係る食品健康影響評価につ  
3 いて要請（厚生労働省発食安第0802001号）、関係書類の接  
4 受

5 2007年8月9日 第202回食品安全委員会（要請事項説明）

6 2008年7月18日 第60回添加物専門調査会

7 2008年8月29日 第61回添加物専門調査会

8

9

10 <食品安全委員会委員名簿>

~~（2007年3月31日まで）~~

~~見上 彪（委員長）~~

~~小泉 直子（委員長代理）~~

~~長尾 拓~~

~~野村 一正~~

~~畑江 敬子~~

~~本間 清一~~

~~（2007年4月1日から）~~

見上 彪（委員長）

小泉 直子（委員長代理）

長尾 拓

野村 一正

畑江 敬子

廣瀬 雅雄

本間 清一

11

12 <食品安全委員会添加物専門調査会専門委員名簿>

（2007年9月30日まで）

福島 昭治（座長）

山添 康（座長代理）

石塚 真由美

井上 和秀

今井田 克己

江馬 眞

大野 泰雄

久保田 紀久枝

中島 恵美

西川 秋佳

林 眞

三森 国敏

吉池 信男

（2007年10月1日から）

福島 昭治（座長）

山添 康（座長代理）

石塚 真由美

井上 和秀

今井田 克己

梅村 隆志

江馬 眞

久保田 紀久枝

頭金 正博

中江 大

中島 恵美

林 眞

三森 国敏

吉池 信男

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

<参考人>

宇理須 厚雄

鎌田 洋一

手島 玲子

森田 明美

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33

## 要 約

酵素（タンパク質の脱アミド化酵素）として使用される添加物「プロテイングルタミナーゼ」について、各種試験成績等を用いて食品健康影響評価を実施した。

評価に供した試験成績は、プロテイングルタミナーゼを被験物質とし、反復投与毒性、遺伝毒性、アレルギー誘発性等である。

1 I. 評価対象品目の概要 (参照 18、57)

2 1. 用途

3 酵素

4

5 2. 名称 (参照 18、57)

6 和名：プロテイングルタミナーゼ

7 英名：Protein-glutaminase

8 Enzyme Commission No. : EC3.5.1XX

9

10 3. 分子量 (参照 18、57)

11 20 kDa (SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法による分子量)

12 19,860 Da (アミノ酸配列から計算される分子量)

13

14 4. 構造式 (参照 18、57)

15 プロテイングルタミナーゼのアミノ酸配列 (アミノ酸の一文字表記)

16 LASVIPDVATLNSLNFNQIKNQSCGTSTASSPCITFRYPVD 40

17 GCYARAHKMRQILMNNGYDCEKQFVYGNLKASTGTCCVAW 80

18 SYHVAILVSYKNASGVTEKRIIDPSLFSGGPVTDTAWRNA 120

19 CVNTSCGSASVSSYANTAGNVYYRSPNSYLYDNNLINTN 160

20 CVLTKFSLLSGCSPSPAPDVSSCGF 185

21 合計アミノ酸残基数 185

22

23 5. 酵素活性規格

24 本品は、1 g 当たり 500 単位<sup>1</sup>以上の酵素活性 (プロテイングルタミナーゼ力)

25 を有する。

26

27 6. 製造方法等

28 本品は、菌株 *Chryseobacterium proteolyticum* (*Chryseobacterium*属に属する

29 新種である (参照8)) の培養液を、イオン交換クロマトグラフィーを用いて精製

30 して得られる粉末品あるいは液体品である。粉末化、液体化などを目的として、

31 デキストリンやグリセリン等の食品素材若しくは食品添加物が用いられる。

32

33 7. 反応様式 (参照 18、19)

34 タンパク質、~~または~~ペプチド中のグルタミン残基に作用し、グルタミン側鎖の

35 アミド基を加水分解し、グルタミン酸残基に変換すると共にアンモニアを遊離す

1. ベンジルオキシカルボニル-L-グルタミニルグルシンを基質として酵素を作用させ、生成するアンモニアをインドフェノール法により測定し、1分間にアンモニア 1 μmol に相当する吸光度の増加を与える酵素量を 1 単位とする。

1 る。

2 タンパク質またはペプチド中の Protein-bound Gln + H<sub>2</sub>O

3 → タンパク質またはペプチド中の  
4 Protein-bound Glu + NH<sub>3</sub>

## 6 8. 性状等 (参照 57)

7 白～淡黄白色の粉末若しくは粒又は無～淡黄白色の液状で、においがなく又  
8 はわずかに特異なにおいがある。

## 10 9. 性質 (参照 57)

11 至適温度は50～60℃であり、50℃、1時間処理で安定である。70℃、1時間処理  
12 でほぼ完全に失活する。等電点はpH10.0であり、至適pHは5～6、安定pHは5～9、  
13 Ag<sup>+</sup>、Zn<sup>2+</sup>、Cu<sup>2+</sup>あるいはヨードアセトアミドにより阻害される。

## 15 10. 生産菌

### 16 (1) 分類

17 本生産菌は、2000年に筑波地方の田園土壌から単離された  
18 *Chryseobacterium* 属に属する新種の細菌であり、*Chryseobacterium*  
19 *proteolyticum*と命名された (参照8)。本菌株のDSMZ (Deutsche Sammlung  
20 von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH : German Collection of  
21 Microorganisms and Cell Cultures) リスクグループ<sup>2</sup>におけるリスク分類は、  
22 公的保存機関に寄託されていないため評価されることがないが、16S rRNA 遺  
23 伝子に基づく系統樹 (参照23、61、62) によると、Chryseobacterium属に属  
24 する本菌の類縁の菌はリスクグループ1あるいは2に分類されている。新菌種で  
25 分離源が土壌、排水・汚泥、植物根等のものがリスクグループ1とされているこ  
26 と、本菌株は分離源が土壌であることに加え、非病原性であることが報告され  
27 ていること (参照9) から、要請者は、本菌株がリスクグループ1とされる可能

<sup>2</sup> DSMZリスク分類は世界保健機構 (WHO) が制定したLaboratory biosafety manualに基づき、ドイツ政府が定めた基準 (Verordnung über Sicherheit und Gesundheitsschutz bei Tätigkeiten mit biologischen Arbeitsstoffen) に沿って、病原性、菌の伝播様式、宿主域、有効な予防方法の有無、有効な治療法の有無を考慮した分類様式である。なお、分類には1～4があるが、分類3及び4に該当するものは高い病原性があるとされる。要請者は、*Chryseobacterium*属に関する情報が充実していることから本分類を採用したとしている。

リスク分類1及び2の内容は平記以下である。

リスク・グループ1 (個体及び地域社会に対する低危険度)

ヒトに疾病を起こし、あるいは動物に獣医学的に重要な疾患を起こす可能性のないもの。

リスク・グループ2 (個体に対する中等度危険度、地域社会に対する軽微な危険度)

ヒトあるいは動物に病原性を有するが、実験室職員、地域社会、家畜、環境等に対し重大な災害とならないもの、実験室内で暴露されると重篤な感染を起こす可能性はあるが、有効な治療法、予防法があり、伝播の可能性は低いもの。

性が極めて高いとしている。(参照 要請者申請資料図表6、添付資料11)

## ~~(2) 継代維持における状況~~

~~本菌株は、1997年土壌より単離されてから2005年10月末時点まで、天野エンザイム株式会社筑波研究所、中央研究所、岐阜研究所において、研究開発のために継続して培養されてきた。その間、岐阜研究所内での3-LスケールのJar培養を130回延べ約1000バッチ、西春工場での800 Lスケールのタンク培養を17回延べ約34バッチ、養老工場55 kLスケールのタンク培養を3回3バッチ繰り返してきた。それに携わった従事者は20余名に及ぶが、本菌株の取り扱いに起因すると考えられる健康上の異変、異常所見はみられていない。~~

## (2-3) 本品における残留性

製造工程中で除菌ろ過がなされることから、本菌株が酵素原体中に残存することはないとされている。

## (3-4) 食品分野で使用されている類縁菌

*Chryseobacterium* 属に属する菌株では、*C. balustinum* 由来のプロテアーゼが、チーズフレーバー増強の目的で使用されている。(参照27)

### 1 1. 評価要請の経緯

現在、食品タンパク質素材(カゼイン、乳清タンパク質、乾燥卵白、ゼラチン、大豆タンパク質、小麦タンパク質等)は、ハム・ソーセージ、パン、ケーキ、水産練り製品等の様々な食品にそのまま利用される。しかしながら、小麦グルテンやトウモロコシタンパク質などは、溶解性、乳化特性、泡沫特性、ゲル化特性等が低く用途が限られているため、これらのタンパク質の特性を向上させる方法として、脱アミド化、即ちタンパク質中のグルタミン残基若しくはアスパラギン残基の側鎖のアミド基を加水分解することが、効果的な方法として知られている。工業的に実用化されているのは、塩酸加水分解のみであり、実際、塩酸加水分解により脱アミド化された小麦グルテンが現在流通している。しかしながら、この化学的処理では、ペプチド結合の切断や他のアミノ酸残基の修飾等の副反応が生じ、タンパク質本来の栄養価や物理的機能特性が損なわれることが避けられない(参照5)。また、塩酸によるタンパク質の加水分解は、発がん性が疑われている塩素化合物モノクロロプロパンジオール(MCP)、ジクロロプロパノール(DCP)生成のリスクがある(参照6)。プロテイングルタミナーゼは、これらのリスクを回避し、酵素的手段によりタンパク質の脱アミド化を行うものである。

菌株~~*Chryseobacterium*~~ *C. proteolyticum*から生産されるプロテイングルタミナーゼは、諸外国において評価がなされておらず、加工助剤を食品添加物として規制していないEUの一部の国においてしか使用経験のない、新規の酵素である。

1 今回、事業者から厚生労働省に指定要請がなされたことから、厚生労働省が指定  
2 等の検討を開始するに当たり、食品安全基本法に基づき、食品安全委員会に食品  
3 健康影響評価が依頼されたものである。

## 6 12. 添加物指定の概要

7 プロテイングルタミナーゼについて、使用に関する基準及び成分規格について  
8 検討した上で、新たに添加物として指定しようとするものである。なお、使用方  
9 法は、①本品により脱アミド化された食品タンパク質素材が各種加工食品に添加  
10 される場合と、②各種加工食品の製造工程で直接本品が添加される場合が考えら  
11 れる。

## 13 II. 安全性に係る知見の概要

### 14 1. 生産菌の安全性

15 本品の生産菌 (*Chryseobacterium C. proteolyticum*) が非病原性であり、非毒  
16 素産生性であることを確認するために、農林水産省農林水産技術会の研究成果会  
17 議事務局「動物性飼料並びに微生物飼料の安全性評価手法の開発」(参照46、47)  
18 に記載の方法に準じ<sup>3</sup>、(1) 生菌体懸濁液のマウス静脈内接種及び経口接種試験  
19 並びに(2) 本菌の菌体培養上清液及び菌体破碎上清液のマウス静脈内接種試験を  
20 行った。

#### 22 (1) 非病原性の確認

23 生菌体懸濁液のマウス静脈内接種及び経口接種試験による死亡例、体重推  
24 移の異常、生残菌は認められなかった。静脈内接種の試験において、 $2.9 \times 10^8$   
25 colony forming unit (CFU) /body 投与では肝臓で10例中4例に軽度の局所  
26 的な壊死が認められた。対照として用いた緑膿菌では、 $1.1 \times 10^7$  CFU/body  
27 投与で10例中6例が死亡し、生存した4例中各2例の肝臓で中等度あるいは軽  
28 度の局所的な壊死が認められた(参照 添付資料1)。本菌株について、その  
29 接種による死亡例等は認められていないこと、経口接種の試験 ( $1.3 \times 10^9$   
30 CFU/body 投与) では異常な組織学的所見は認められていないことから、通  
31 常の動物においては、病原性は緑膿菌と比べて極めて低いと考えられる。

32 また、本菌の培養上清液及び菌体破碎上清液のマウス静脈内接種試験によ  
33 る死亡例、体重推移の異常、生残菌は認められなかった。(参照 添付資料1)

#### 35 (2) 非毒素産生性の確認

<sup>3</sup> 微生物の安全性(非病原性、非毒素産生性)を実験データから評価する国際的な手法はない。  
要請者は、本試験は微生物の安全性を評価する手法として唯一公開されており、接種条件とし  
て最も厳しい条件(直接血流中に接種)であるため採用したとしている。

1 ~~菌体培養上清液及び破碎上清液のマウス静脈内接種試験による死亡例、体~~  
2 ~~重推移の異常、生残菌は認められなかった。また、本菌の菌体培養上清液及~~  
3 ~~び菌体破碎上清液中にはエンドトキシン（リポポリサッカライド）活性は検~~  
4 ~~出されなかった<sup>4</sup>。（参照 添付資料1）~~

5 また、文献24に引用されている文献を含めた文献調査の結果でも、本菌を  
6 含む類縁菌において毒素産生性に関する報告はなかった。

7 さらに、本属の所属する科はFlavobacteriaceae Family であり、本科の属  
8 する目はFlavobacteriales Order である。本目Flavobacteriales Order に属  
9 する科は他に2つあるが、これら3つの科に属する計69属（2006年4月26日現  
10 在のNCBI のTaxonomy Browser より）にまで検索範囲を拡大しても、アヒ  
11 ル病原菌として知られる *Riemerella anatipestifer*の産生する溶血因子  
12 CAMP cohemolysin の~~説明~~に関するもの一報（参照25）及び  
13 *Capnocytophaga canimorsus* においてその培養液ろ液がmurine  
14 macrophage cell line J774 の増殖阻害、剥離を引き起こす現象に関するもの  
15 一報（参照26）の、合計2件のみであった。それほど類縁性が高くない同一科  
16 内の他の属における生産菌の報告であることから、必ずしも本菌株の毒素産  
17 生性を懸念するものではないと考えられる。

18  
19 以上から、~~要請者は、一本生産菌株について、は非病原性は緑膿菌と比べても極~~  
20 ~~めて低く、また、非毒素産生性であるとしている考えられる。~~

## 22 2. ~~酵素~~の消化管内での分解性等

23 酵素は、天然に存在するタンパク質（アミノ酸のポリマー、糖や脂質等が結合  
24 している場合もある）であり、食品常在成分からなる物質である。本品も、185  
25 のアミノ酸から構成されることが明らかにされ、消化管内で速やかに分解され、  
26 他の食品由来のタンパク質と同じように体内へ吸収されると考えられる。このこ  
27 とをより明らかにするため、厚生労働省による「食品添加物の指定及び使用基準  
28 改正に関する指針（以下、「ガイドライン」という）」の表2「食品添加物が食  
29 品内又は消化管内で分解して食品常在成分となることを確認する場合の検討事  
30 項」に従って整理した。

### 31 32 (1) 通常の使用条件下で、本品が容易に消化管内で分解して食品常在成分と 33 同一物質になること：

34 本品の人工胃液による消化実験を行った。消化実験に用いた人工胃液  
35 (Simulated Gastric Fluid, SGF) の組成はILSI (International Life

---

<sup>4</sup> 要請者は、本菌株がグラム陰性菌であり、エンドトキシンは、グラム陰性菌に属するある種の菌株が産生し、血中投与時に発熱等の症状を引き起こすことから試験したとしている。

1 Science Institute) のAllergy and Immunology Institute の提案している国  
2 際バリデーション試験方法 (参照48) に、人工腸液 (Simulated Intestinal  
3 Fluid, SIF) の組成はUS ~~Pharmacopia-Pharmacopia~~ Ver. 25 (参照6260) に  
4 従った。人工胃液による本品の分解は、pH1.2では反応開始後0.5分で、pH2.0  
5 では5分後に、~~分子量~~2,500 Da以下のペプチド又はアミノ酸レベルに分解され  
6 た。食品タンパク質の中で、速やかに分解されるものとしてホウレンソウの  
7 Rubisco、分解されにくいものとして卵白オボムコイド (Ovm) 、非常に分  
8 解されにくいものとして牛乳のβ-ラクトグロブリン (BLG) (参照48) を~~対~~  
9 ~~象~~~~対~~~~照~~タンパク質として用いた。本品は、速やかに分解されるRubisco とほ  
10 ぼ同等の易分解性を示した。また、人工腸液中での分解性も、速やかに分解  
11 されるRubisco、卵白オボムコイドと同等の分解性を示した。

12 以上の実験結果から、本品は消化管内~~で非常ににおいても~~速やかに分解さ  
13 れ~~る、食品常在成分と同一になることが示されたと考えられた~~。(参照 添付  
14 資料4)

15  
16 (2) 消化管内での分解に関わる主要な因子 (pH、酵素等) が明らかであるこ  
17 と :

18 本品の人工胃液による消化実験はILSI により国際バリデーションとして  
19 提案されている試験方法に従っているが、その条件・因子は、pH1.2~2.0の  
20 酸性条件であること、及び0.075%ペプシンである。また、腸液 (中性域) 中  
21 のトリプシン、キモトリプシンも分解に関与している。(参照 添付資料4)

22  
23 (3) 本品の通常の使用条件下で適正な量を使用した場合、本品の体内への吸  
24 収が食品成分と同程度であり、他の栄養成分の吸収を阻害しないこと :

25 ~~(-1-)~~で示したとおり、本品は消化管内で速やかに分解され、他の食品  
26 由来のタンパク質と同じように体内へ吸収されると考えられる。そのため、  
27 要請者は、糖質、ミネラル、ビタミン等その他の栄養成分の吸収を阻害する  
28 懸念もないとしている。

29  
30 (4) 摂取された本品の未加水分解物又は部分加水分解物が大量に糞便中に排  
31 泄されないこと。更に、未加水分解物又は部分加水分解物が生体組織中に  
32 蓄積しないこと :

33 ~~(-1-)~~で示したとおり、本品は人工胃液中においては非常に速やかに分  
34 解され、未加水分解物、部分加水分解物は確認されなかった。要請者は、未  
35 加水分解物、部分加水分解物が大量に糞便中に排泄されることも、生体組織  
36 中に蓄積する懸念もないとしている。

37  
38 (5) 本品を使用した食品を摂取したとき、当該食品の主成分の過剰摂取の間

1 題が起きないこと：

2 本品を使用した食品タンパク質の変化は、グルタミン残基のグルタミン酸  
3 残基への変換である。通常食品タンパク質中のグルタミンの大部分は、胃酸  
4 存在下でグルタミン酸に変化していると考えられる。よって、要請者は、本  
5 品により処理された食品タンパク質を摂取しても、通常の食品タンパク質を  
6 摂取した場合と栄養学的に大差はないとしている。

### 8 3. 酵素の毒性

9 ガイドラインのただし書きにおいて、「当該食品添加物が食品常在成分である  
10 か又は食品内若しくは消化管内で分解して食品常在成分となることが科学的に明  
11 らかである場合には毒性に関する資料の添付を省略することができるが、げっ歯  
12 類の28日間反復投与毒性試験および変異原性試験は添付することが望ましい」と  
13 している。

14 消化管内で分解して食品常在成分となることをガイドラインに従って検討した  
15 ところ、2. に記載のとおり、本品が他の食品タンパク質と同様天然に存在するア  
16 ミノ酸からなり、~~ること、また人工胃液を用いた試験において消化管内で速やかに~~  
17 ~~分解されると考えられたことが示された。~~

18 要請者は、反復投与毒性試験としては~~28日間の試験ではなく、~~毒性学的知見の  
19 有無をより正確に得られる90日間の試験を実施している。

20 ~~なお、JECFAは、「げっ歯類を用いた90日間反復投与毒性試験」、「細菌によ~~  
21 ~~る遺伝毒性試験、染色体異常試験」、「一日摂取量に関する資料（ADIの考察）」、~~  
22 ~~「基原微生物の安全性（生産菌は、非病原性、非毒素産生性であること）」を要~~  
23 ~~求している。~~

#### 24 (1) 反復投与毒性

25 雌雄の6週齢のSDラット（各群各12匹）にプロテイングルタミナーゼ（0、  
26 635、1,269、2,538 mg/kg 体重 /日）を13週間強制経口投与した。その結果、  
27 いずれの群においても死亡動物は認められなかった。一般状態、体重、摂餌  
28 量、摂水量、眼科学検査、血液学検査、血液化学検査、器官重量、剖検及び  
29 病理組織学検査のいずれにおいても被験物質投与による影響はみられなかつ  
30 た。尿検査では2,538 mg/体重投与群の雌でナトリウム及び塩素の排泄量の高  
31 値がみられたが、これらは被験物質の精製過程に由来するナトリウム及び塩  
32 素の増加に伴う体液恒常性維持の結果と考えられ、毒性学的に意義がないと  
33 考えられた。以上の結果より、著者らは、無毒性量は雌雄共に2,538 mg/kg/  
34 日を上回ると判断している。（参照 添付資料5）

#### 35 (2) 遺伝毒性

##### 36 ①復帰突然変異試験

1 細菌 (*Salmonella typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537 及び  
2 *Esherichia coli* WP2uvrA) を用いた復帰突然変異試験 (最高濃度5,000  
3 µg/plate) を2回繰り返したところ、陰性であった。(参照 添付資料6)

#### 4 5 ②染色体異常試験

6 チャイニーズ・ハムスター培養細胞株 (CHL/IU) を用いた染色体異常試  
7 験 (最高濃度425 µg/mL) では、代謝活性化の有無に関わらず、すべての試  
8 験系において染色体構造異常、数的異常のいずれも増加せず陰性であった。  
9 (参照 添付資料7)

#### 10 11 ③小核試験

12 雄のCDI (ICR) マウスを用い、プロテイングルタミナーゼ (最高用量2,000  
13 mg/kg 体重/日) を24時間間隔で2回経口投与後、骨髄細胞の塗抹標本を作製  
14 し小核を有する多染性赤血球数を計測した。その結果、いずれの用量におい  
15 ても小核を有する多染性赤血球の出現頻度は増加せず陰性であった。(参照  
16 添付資料8)

### 17 18 (3) アレルギー誘発性

19 本品がヒトに対するアレルギー誘発性を有するという知見は現時点で報告さ  
20 れていない。アレルギー誘発性の評価は、「遺伝子組換え微生物を利用して製  
21 造された添加物の安全性評価基準」(平成16年3月25日食品安全委員会決定)  
22 に従い、①既知のアレルゲンとの一次配列の相同性の比較、②人工胃液、腸液  
23 での分解実験が行われた。要請者は、本品は遺伝子組換え微生物を利用して製  
24 造されたものではないが、対象物質がタンパク質であることより同基準に従う  
25 ことが妥当と考えている。

#### 26 27 ①既知のアレルゲンとの一次配列の相同性の比較

28 調査には、Allergen Database for Food Safety (ADSF、国立医薬品食品衛  
29 生研究所機能生化学部)、AllerMatch、Structural Database of Allergenic  
30 Proteins (SDAP)、Food Allergy Research and Resource Program  
31 (FARRP)、の4つのデータベース検索サイトを用いた。これらはILSI-HESI  
32 (International Life Science Institute- Health and Environmental  
33 Sciences Institute) のProtein Allergenicity Technical Committee 報告書  
34 (Chapter 6, 2005年2月) に記載されているものの中から、相同性検索機能  
35 を備えているサイトとして選択した。検索基準として、1) 6、7及び8アミノ  
36 酸の連続一致検索、2) 80 アミノ酸スライディングウインドウ検索 (配列を  
37 80 アミノ酸単位に区切り、その中で35%以上の相同性を示すものの検索)  
38 を行った。

1 結果は以下の通りである。

2  
3 (1) 連続6アミノ酸の一致が3件認められたが、連続7及び8アミノ酸の一  
4 致は、いずれのデータベースにおいても認められなかった。連続6アミノ  
5 酸が一致した3件は、卵由来のオボムコイド (Gal d1)、ラテックスアレ  
6 ルゲンであるゴムの木由来クラスI キチナーゼ (putative) (Hev  
7 b11.0101 とそのアイソザイムHev b11.0102)、*Aspergillus fumigatus*  
8 由来の機能未知タンパク質 (Aspf9とAspf16、両者は相同タンパク質)  
9 であった。(参照 要請者申請資料 図表10)

10  
11 (a) これら3つのタンパク質と本品との全体の一次構造の相同性は認め  
12 られなかった。(参照 要請者申請資料 図表11~15)

13 (b) 既知のアレルゲンに対する相同性に関するExpect (E)-value<sup>5</sup>は最低  
14 でも0.43であり<sup>6</sup>、連続6アミノ酸の一致がみられた3種 (ホモログを含  
15 めて5種) のアレルゲン (Hev b 11.0101、Hev b 11.0102、Asp f 9、  
16 Asp f16、Gal d1) との相同性に関するE-value値は最低でも48であっ  
17 た。(参照 添付資料10)

18 (c) 80 アミノ酸スライディングウインドウ検索の結果から、35%以上  
19 の局所的な相同性も認められなかった。(参照 要請者申請資料 図表  
20 10)

21  
22 以上から、3箇所に認められた6アミノ酸の連続一致はノイズ (偶然の一  
23 致) の範囲内と判断できる可能性が高いと考えられた以上より、本酵素の  
24 アレルギー等に関与するタンパク質との構造相同性は極めて低いと考えら  
25 れた。なお、連続6アミノ酸一致は、ノイズの範囲内と判断できる可能性が  
26 高いと考えられるが<sup>7</sup>、連続6アミノ酸一致部位のエピトープとしての考察

<sup>5</sup> E-Value: データベース登録された配列と検索配列の類似性が偶然に出現する期待値を示す。つまり、E-Value が小さいほどその結果は偶然でない確かな一致であるとみなすことができる。

<sup>6</sup> 既存添加物に登録されている、アクチニジン (Act c1) (プロテアーゼ) が該当した。

<sup>7</sup> 1996年にはILSIにより、「既知アレルゲンタンパク質との8以上連続したアミノ酸の一致」でアレルギー誘発性の疑いがあるとの論文 (参照 51) が公表された。しかしながら、CODEX委員会による審査においては、6アミノ酸以上の一致を指標としてアレルギー誘発性が評価されている。また、2001年、FAO/WHO 専門家会議は6アミノ酸以上の連続完全一致を指標として評価する指針としてアレルギー誘発性評価の判断樹 (decision tree) を設けたが (参照 52) 、問題点として、6アミノ酸連続完全一致を指標とする評価はノイズ (=アレルギー誘発性有無とは関係のない偶然の一致) が多いため偽陽性が出やすいという指摘がある (参照 53) 。2003年 Codex 委員会の組換え DNA 植物由来食品の安全性評価の実施に関するガイドラインのアレルギー誘発性評価に関する添付資料では、比較すべき連続するアミノ酸残基の個数までは限定していない。

1 については、以下 (2)、(3) に記す。

2  
3 (2) 連続6アミノ酸の一致がみられた部位がエピトープ部位かどうかを確認  
4 した結果、ゴムの木由来クラスI キチナーゼにおいては、エピトープと  
5 されるドメインとは別の部位であった。ほぼ全域がエピトープとされる  
6 卵由来のオボムコイドにおいては、複数の研究報告を総合したところ、  
7 推定エピトープが含まれていた。*Aspergillus fumigatus*由来の機能未知  
8 タンパク質においては、マイナーなアレルゲンであるためエピトープが  
9 推定されていない。(参照 添付資料12)

10  
11 (3) 一般にアレルギー反応は、抗原タンパク分子が少なくとも2つ以上  
12 のIgE 抗体と結合し、IgE レセプターを架橋することで起こると言われ  
13 ており、1分子のIgE 抗体のみではアレルギー性反応を惹起できないこ  
14 とが明らかとなっている(参照50)。本品においては、1種のアレルゲン  
15 につき、連続6アミノ酸の一致が1ヶ所しかみられなかった。(参照 要請  
16 者申請資料 図表10)

#### 17 ②人工胃液及び人工腸液での分解実験

18 酵素の消化管内での分解性等体内動態の項で述べたように、人工胃液及び  
19 人工腸液中での分解実験の結果、本品は最も分解性の速いタンパク質グルー  
20 プに分類され、pH1.2の人工胃液中では0.5分後に2,500 Da以下のペプチド又  
21 はアミノ酸レベルに分解された既に分解断片も検出されなかった。(参照 添  
22 付資料4)

#### 23 ③加熱処理

24  
25 70℃、1時間の加熱処理により酵素活性が消失することが示された。(参照  
26 要請者申請資料 図表7)

27 ドットプロットウェスタン解析、ELISA解析の結果、70℃、30分間の加熱  
28 処理または100℃、10分間の煮沸処理により、本品の免疫反応性が低下する  
29 ことが示された。(参照 配布資料2-2)

30  
31  
32 以上を総合的に判断し、要請者は、本品のアレルギー誘発性は極めて低いと結  
33 論している。~~なお、加熱処理による変化について、抗体との結合能の変化に関し~~  
34 ~~ては確認されていない。~~

#### 35 4. ヒトにおける知見

36 C. proteolyticumは、1997年土壌より単離されてから2005年10月末時点まで、  
37 天野エンザイム株式会社筑波研究所、中央研究所、岐阜研究所において、研究開  
38

1 発のために継続して培養されてきた。その間、岐阜研究所内での3 Lスケールの  
2 培養を130回延べ約1000バッチ、西春工場での800 Lスケールのタンク培養を17  
3 回延べ約34バッチ、養老工場55 kLスケールのタンク培養を3回3バッチ繰り返して  
4 きた。それに携わった従事者は20余名に及ぶが、本菌株の取り扱いに起因する  
5 と考えられる健康上の異変、異常所見はみられていない。

6 *Chryseobacterium* 属に属する類縁の菌株について、抵抗力の弱った患者等  
7 の感染例（日和見感染例）が報告されている。

#### 9 **4.5. 一日摂取量の推計等**

10 本品の使用方法は大きく分けて次の二通りが考えられる。①本品により脱アミ  
11 ド化された食品タンパク質素材が各種加工食品に添加される場合と、②各種加工  
12 食品の製造工程で直接本品が添加される場合である。食品タンパク質素材には、  
13 乳清タンパク質、カゼイン、小麦グルテン、大豆タンパク質、卵白等があり、加  
14 工食品には、パン、ケーキ、麺類等の小麦加工食品、豆腐、油揚げ等の大豆加工  
15 食品、水産練り製品、ハム・ソーセージ等の魚肉・畜肉加工食品、チーズ等の乳  
16 製品、ビール、茶等の飲料、醤油等の調味料がある。

17  
18 ①の場合：日本で流通している上記タンパク質素材の全量（輸入量と生産量の  
19 和）が本品により処理され食品として消費された場合を仮定し、本品  
20 の添加量から本品の一日推定摂取量を求めたところ、14.03~~2~~ mg/人/  
21 日であった（参照 別紙1）。なお、本品の添加量は、要請者の資料に  
22 基づきタンパク質当たり0.49～1.04%の値を用いた。

23 この値を平均体重50 kgで除すると、本品の一日推定摂取量は0.28~~1~~  
24 mg/kg体重/日と計算された。

25 ②の場合：本品が使用される可能性のある加工食品のすべてに本品が添加され  
26 全量が食品として消費された場合を仮定し、「平成16年国民健康・栄  
27 養調査票の栄養素等摂取量（総数）」から得られるそれぞれの加工食  
28 品の国民一人当たりの摂取量と本品の添加量から、本品の一日推定摂  
29 取量を求めたところ、17.55~~0~~ mg/人/日であった（参照 別紙2）。なお、  
30 本品の添加量は、要請者の資料に基づき、最高添加量であるタンパク  
31 質当たり0.09%の値を用いた。この値を日本人の平均体重50 kgで除す  
32 ると、本品の一日推定摂取量は0.35~~1~~ mg/kg 体重/日と計算された。

### 35 Ⅲ. 国際機関等における評価

#### 36 1. JECFA における評価

37 JECFAにおいては、プロテイングルタミンナーゼについて未評価である。  
38

1        **2. FDAにおける評価**

2        米国においては、GRAS 物質（Substances Generally Recognized as Safe ; 一  
3        般に安全と認められる物質）としての申請の準備中である。

4

5        **3. EUにおける評価**

6        EU においては、加工助剤を食品添加物として規制しておらず、一部の国にお  
7        いてその使用の実績がある。

8

9        **4. わが国における評価**

10       本品と同様に脱アミド化能を有するトランスグルタミナーゼ及びグルタミナー  
11       ゼは、既存添加物として登録されている。

12

1 <別紙1：プロテイングルタミナーゼの1日推定摂取量の算出

2 ①本品により脱アミド化されたタンパク質素材が加工食品に添加される場合>  
 3 (要請者提出資料より抜粋)

4

	a	b	c	d	e
	2005年タンパク質素材の年間輸入量・生産量 <sup>1)</sup>	タンパク質素材の国民1人あたり1日の消費量 ( $a \times 1,000,000 / 126,149,000^2$ )/365)	プロテイングルタミナーゼ添加量	プロテイングルタミナーゼ摂取量 ( $b \times c / 100 \times 1,000$ )	プロテイングルタミナーゼ1日推定摂取量 ( $d/50$ )
	トン/年	g/人/日	%	mg/人/日	mg/kg/日
カゼイン	7,522	0.163	0.490 <sup>3)</sup>	0.800	0.016
カゼイネート	10,777	0.234	0.490 <sup>3)</sup>	1.147	0.023
WPC(ラクトアルブミン)	8,894	0.193	0.490 <sup>3)</sup>	0.946	0.019
乳タンパク質濃縮物(TMC,MPC)	6,582	0.143	0.490 <sup>3)</sup>	0.700	0.014
乾燥卵白	10,486	0.228	0.490 <sup>3)</sup>	1.116	0.022
大豆タンパク	43,803	0.951	0.490 <sup>3)</sup>	4.661	0.093
小麦タンパク	20,631	0.448	1.040 <sup>4)</sup>	4.660	0.093
合計	108,695	2.361		14.032	0.281

5 1) 参照2

6 2) 参照56

7 3) 参照57

8 4) 参照31

1 <別紙2：プロテイングルタミナーゼの1日推定摂取量の算出

2 ②加工食品の製造工程で直接添加される場合>

3 (要請者提出資料より抜粋)

4

	a	b	c	d	e	f
	1日食品 摂取量 <sup>1)</sup>	食品中の タンパク 質含量 <sup>1)</sup>	1日に摂取す る食品中のタ ンパク質含量 (a×b/100)	プロテイング ルタミナーゼ 添加量 <sup>2)</sup>	プロテイングル タミナーゼ摂取 量(b×c/ 100×1,000)	プロテイング ルタミナーゼ 1日推定摂取 量(d/50)
	g/人/日	%	g/人/日	対タンパク 質%	mg/人/日	mg/kg体重/日
パン類(菓子パン除く)	33.5	9.25	3.10	0.09	2.790	0.056
うどん、中華麺類	35.7	3.36	1.20	0.09	1.080	0.022
即席中華麺	4.1	9.76	0.40	0.09	0.360	0.007
パスタ類	9.8	5.10	0.50	0.09	0.450	0.009
その他小麦加工類	5.1	7.84	0.40	0.09	0.360	0.007
豆腐	36.7	6.27	2.30	0.09	2.070	0.041
油揚げ類	7.3	15.07	1.10	0.09	0.990	0.020
その他の大豆加工品	7.1	4.23	0.30	0.09	0.270	0.005
魚介(練り製品)	9.3	11.83	1.10	0.09	0.990	0.020
魚肉ハム・ソーセージ	0.4	25.00	0.10	0.09	0.090	0.002
ハム・ソーセージ	11.4	14.91	1.70	0.09	1.530	0.031
チーズ	2.3	21.74	0.50	0.09	0.450	0.009
発酵乳・乳酸飲料	23.1	3.46	0.80	0.09	0.720	0.014
その他の乳製品	8.2	3.66	0.30	0.09	0.270	0.005
ケーキ・パストリー類	7.4	6.76	0.50	0.09	0.450	0.009
ビスケット類	1.8	5.56	0.10	0.09	0.090	0.002
ビール	61.1	0.33	0.20	0.09	0.180	0.004
茶	306.9	0.13	0.40	0.09	0.360	0.007
コーヒー・ココア	123.0	0.33	0.40	0.09	0.360	0.007
しょうゆ	16.6	8.43	1.40	0.09	1.260	0.025
マヨネーズ	3.3	3.03	0.10	0.09	0.090	0.002
味噌	11.7	11.97	1.40	0.09	1.260	0.025
その他の調味料	56.8	2.11	1.20	0.09	1.080	0.022
合計	782.6		19.50		17.550	0.351

5 1) 参照58

6 2) 参照32

- 1 <参照>
- 2 要請者申請資料 図表6 *Chryseobacterium*属の16S rRNA遺伝子配列に基づく系  
3 統樹 (天野エンザイム株式会社)
- 4 要請者申請資料 図表7 プロテイングルタミナーゼの温度安定性  
5 (天野エンザイム株式会社)
- 6 要請者申請資料 図表10 80アミノ酸スライディングウインドウ検索結果  
7 (天野エンザイム株式会社)
- 8 要請者申請資料 図表11 Hev b11.0101とのアミノ酸配列の相同性検索結果  
9 (天野エンザイム株式会社)
- 10 要請者申請資料 図表12 Hev b11.0102とのアミノ酸配列の相同性検索結果  
11 (天野エンザイム株式会社)
- 12 要請者申請資料 図表13 Ovomuroidとのアミノ酸配列の相同性検索結果  
13 (天野エンザイム株式会社)
- 14 要請者申請資料 図表14 Asp f 9とのアミノ酸配列の相同性検索結果  
15 (天野エンザイム株式会社)
- 16 要請者申請資料 図表15 Asp f 16とのアミノ酸配列の相同性検索結果  
17 (天野エンザイム株式会社)
- 18
- 19 [添付資料1] 生産菌の病原性試験 (トキシン生産性試験を含む)  
20 (天野エンザイム株式会社)
- 21 [添付資料2] プロテイングルタミナーゼ処理による大豆タンパク質の泡沫特性に  
22 及ぼす影響 (天野エンザイム株式会社)
- 23 [添付資料3] プロテイングルタミナーゼ処理による卵白のゲル化特性に及ぼす影  
24 響 (天野エンザイム株式会社)
- 25 [添付資料4] 人工胃液、人工腸液による消化性試験 (天野エンザイム株式会社)
- 26 [添付資料5] 90日間反復投与毒性試験 (天野エンザイム株式会社)
- 27 [添付資料6] 微生物を用いる復帰変異試験 (天野エンザイム株式会社)
- 28 [添付資料7] 哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験 (天野エンザイム株式会社)
- 29 [添付資料8] げっ歯類を用いる小核試験 (天野エンザイム株式会社)
- 30 [添付資料9] 海外ガイドラインとの比較 (天野エンザイム株式会社)
- 31 [添付資料10] プロテイングルタミナーゼと連続6アミノ酸の一致が見られたアレ  
32 ルゲン蛋白質のE-value解析 (天野エンザイム株式会社)
- 33 [添付資料 11] *Chryseobacterium* 属における本菌株の位置づけ  
34 (天野エンザイム株式会社)
- 35 [添付資料 12] 連続 6 アミノ酸一致部位の分析 (天野エンザイム株式会社)
- 36 [配布資料 2-2] 加熱処理によるプロテイングルタミナーゼの免疫反応性の変化  
37  
38

- 1 1 食品蛋白質応用開発研究会, [1] 食品蛋白質の構造と物性, 新しい食品蛋白質  
2 の開発と実用化〈総合資料集〉, 向文堂, (1985) :23-38
- 3 2 たん白・ペプチド素材の市場動向, 食品と開発VOL.41, No.7, (2006) :36-44
- 4 3 Riha III W E, Izzo HV, Zhang J and Ho C T. Nonenzymatic deamidation of  
5 food proteins. *Crit. Rev Food Sci Nutr.* (1996) 36:225-255
- 6 4 Hamada J S. Deamidation of food proteins to improve functionality. *Crit Rev*  
7 *Food Sci Nutr.* (1994) 34:283-292
- 8 5 日本食品科学工学会新・食品分析法編集委員会編, 新・食品分析法, 光琳,  
9 (1996) :496-497
- 10 6 Is HAP safe? *Ingredient*, (1989) :67,69
- 11 7 Schwenke K D. Enzyme and chemical modification of proteins in *Food*  
12 *Proteins and Their Applications.* Marcel Dekker, New York. (1997) :393-423
- 13 8 Yamaguchi S. and Yokoe M. A novel protein-deamidating enzyme from  
14 *Chryseobacterium proteolyticum* sp. nov., a newly isolated bacterium from soil.  
15 *Appl. Environ. Microbiol.* (2000) 66:3337-3343
- 16 9 Scheuplein R J, Mizutani A and Yamaguchi S. Studies on the  
17 non-pathogenicity of *Chryseobacterium proteolyticum* and on the safety of the  
18 enzyme: Protein-glutaminase. *Regulatory Toxicology and Pharmacology.*  
19 (2007) 49 (2) :79-89
- 20 10 Daussant J M, Neucere N J and Conkerton E J. Immunochemical studies on  
21 *Arachis hypogaea* proteins with particular reference to the reserve proteins. II.  
22 Protein modification during germination. *Plant Physiol.* (1969) 44:480-484
- 23 11 Kumar K G, Vencataraman L V and Appu Rao A G. Chickpea seed proteins:  
24 Conformational changes in 10.3S protein during germination. *J. Agric. Food*  
25 *Chem.* (1980) 28:518-524
- 26 12 Kumar G N, Houtz R L and Knowles N R. Age-induced protein modifications  
27 and increased proteolysis in potato seed-tubes. *Plant Physiol.* (1999) 119:89-99
- 28 13 Vaintraub I A, Kotova L V and Shaha R. Protein deamidase from germinating  
29 wheat grains. *FEBS Lett.* (1992) 302:169-171
- 30 14 Vaintraub I A, Kotova L V and Shaha R. Protein deamidases from  
31 germinating seeds. *Physiol. Plantarum.* (1996) 96:662-666
- 32 15 Mycek M J and Waelsch H. The enzymatic deamidation of proteins. *J. Biol.*  
33 *Chem.* (1960) 235:3513-3517
- 34 16 上島孝之. 食品機能の改良[トランスグルタミナーゼの利用]. 産業用酵素. 丸善.  
35 (1995) :40-42
- 36 17 Kikuchi M, Hayashida H, Nakano E. and Sakaguchi K. Peptidoglutaminase.  
37 Enzymes for selective deamidation of  $\gamma$ -amido of peptide-bound glutamine.  
38 *Biochemistry.* (1971) 10: 1222-1229

- 1 18 Yamaguchi S, Jeens D J. and Archer, D.B. Protein-glutaminase from  
2 *Chryseobacterium proteolyticum*, an enzyme that deamidates glutaminyl  
3 residues in proteins. Purification, characterization and gene cloning. *Eur. J.*  
4 *Biochem.* (2001) 268:1410-1421
- 5 19 天野エンザイム株式会社 社内報告書AIS No.01-28480
- 6 20 Vandamme P, Bernardet J-F, Segers P, Kersters K and Holmes, B. New  
7 perspectives in the identification of the flavobacteria: description of  
8 *Chryseobacterium* gen. nov., *Bergeyella* gen. nov., and *Empedobacter* nom. rev.  
9 *Int. J. Syst. Bacteriol.* (1994) 44:827-831
- 10 21 Kim K K, Kim M K, Lim J H, Park H Y, and Lee S T. Transfer of  
11 *Chryseobacterium meningosepticum* and *Chryseobacterium miricola* to  
12 *Elizabethkingia* gen. nov. as *Elizabethkingia meningoseptica* comb nov. and  
13 *Elizabethkingia miricola* comb. nov. *Int J Syst Evol Microbiol.* (2005)  
14 55:1287-1293
- 15 22 Jooste P J and Hugo C J. The taxonomy, ecology and cultivation of bacterial  
16 genera belonging to the family Flavobacteriaceae. *J. Food Microbiol.* (1999)  
17 53:81-94
- 18 23 Shimomura K, Kaji S, and Hiraishi A. *Chryseobacterium shigense* sp. nov., a  
19 yellow-pigmented, aerobic bacterium isolated from a lactic acid beverage. *Int.*  
20 *J. Syst. Evol. Microbiol.* (2005) 55 (Pt 5) :1903-1906
- 21 24 Pariza M W. and Johnson E A. Evaluation the safety of microbial enzyme  
22 preparations used in food processing: Update for a new century. *Regul Toxicol*  
23 *Pharmacol.* (2001) 33:173-186
- 24 25 Creata K C, Chua K-L, Subramaniam S, Frey J, Loh H and Tan H-M.  
25 Identification and characterization of CAMP cohemolysin as a potential  
26 virulence factor of *Riemerella anatipestifer*. *J Bacteriol.* (2002) 184: 1932-1939
- 27 26 Fischer L J, Weyant R S, White E H, Quinn F D. Intracellular multiplication  
28 and toxic destruction of cultured macrophages by *Capnocytophaga canimorsus*.  
29 *Infect Immun.* (1995) 63 (9) :3484-90
- 30 27 Robinson R, Batt A C. and Patel P D. *Encyclopedia of food microbiology.*  
31 Academic Press. (2000) :820-826
- 32 28 松村泰生、具延淑、森友彦、山口庄太郎.新規なタンパク質脱アミド酵素・プロ  
33 テイングルタミンナーゼの食品タンパク質に対する作用. *食品加工技術.* (2002) 第  
34 22 巻第2 号:11-18
- 35 29 山口庄太郎 食品酵素化学の最新技術と応用-フードプロテオミクスへの展望  
36 (2004) :141-153
- 37 30 Gu Y S, Matsumura Y, Yamaguchi S, and Mori T. Action of  
38 protein-glutaminase on  $\alpha$ -lactalbumin in the native and molten globule states.

1 J Agric Food Chem. (2001) 49:5999-6005

2 31 Yong Y H, Yamaguchi S, and Matsumura Y. Effects of enzymatic deamidation  
3 by protein-glutaminase on structure and functional properties of wheat gluten.  
4 J Agric Food Chem. (2006) 54 (16) :6034-40

5 32 特許公報 特許第3609648 号

6 33 Yong Y H, Yamaguchi S, and Matsumura Y. Modification of functional  
7 properties of wheat gliadin and glutenin by protein-glutaminase-catalyzed  
8 deamidation (2005)  
9 [http://ift.confex.com/ift/2005/techprogram/paper\\_28901.htm](http://ift.confex.com/ift/2005/techprogram/paper_28901.htm).

10 34 Yong Y H, Yamaguchi S, Gu Y S, Mori T, Matumura Y. Effects of enzymatic  
11 deamidation by protein-glutaminase on structure and functional properties of  
12  $\alpha$ -zein. J Agric Food Chem. (2004) 52:7094-7100

13 35 US Patent 6756221

14 36 Kato A, Tanaka A, Lee Y, Matsudomi N and Kobayashi K. Effects of  
15 deamidation with chymotrypsin at pH 10 on the functional properties of  
16 proteins. J Agric Food Chem. (1987) 35:285-288

17 37 Bollecker S, Viroben G, Popineau Y. and Gueguen J. Acid deamidation and  
18 enzymatic modification at pH 10 of wheat gliadin: Influence on their fuctional  
19 properties. Sci Aliments. (1990) 10:343-356

20 38 Shih F. Deamidation during treatment of soy protein with protease. J Food  
21 Sci. (1990) 55 :127-132

22 39 Motoki M, Seguro K, Nio N and Takinami K. Glutamine-specific deamidation  
23 of  $\alpha$ S1-casein by transglutaminase. Agric Biol Chem. (1986) 50:3025-3030

24 40 Larre C, Kedzior Z M, Chenu M G, Viroben G and Gueguen J Action of  
25 transglutaminase on an 11 S seeds protein (pea legumin) : influence of the  
26 substrate conformation. J Agric Biol Chem. (1992) 40:1121-1126

27 41 Larre C, Chiarello M, Blanloeli J Y, Chenu M and Gueguen J. Gliadin  
28 modification catalyzed by guinea pig liver transglutaminase. J Food Biochem.  
29 (1993) 17:267-282

30 42 Gill B P, O'Shaughnessey, A J, Henderson P and Headon D R. An assessment  
31 of the potential of peptidoglutaminases I and II in modifying the charge  
32 characteristics of casein and whey proteins. Ir. J. Food Sci. Technol. (1985) 9:  
33 33-41

34 43 Hamada J S, Shih F F, Frank A W and Marshall W E. Deamidation of soy  
35 peptides and proteins by *Bacillus circulans* peptidoglutaminase. J. Food Sci.  
36 (1988) 53:671-672

37 44 Hamada J S. Effects of heat and proteolysis on deamidation of food proteins  
38 using 32 peptidoglutaminase. J. Agric. Food Chem. (1992) 40:719-723

- 1 45 Riha III W E, H V Izzo, J Zhang and C.-T. Ho. Nonenzymatic deamidation of  
2 food proteins. *Crit Rev in Food Sci. and Nutr.* (1996) 36:225-255
- 3 46 農林水産省農林水産技術会議事務局. 動物性飼料並びに微生物飼料の安全性評  
4 価手法の開発. 研究成果170. (1985) :70-77
- 5 47 Minoru Yoshida and Hajime Minato Assessment of the Pathogenicity of  
6 Bacteria Used in the Production of Single Cell Protein. *Agric. Biol. Chem.*  
7 (1987) 51 (1) : 241-242
- 8 48 Thomas K, Aalbers M, Bannon GA, Bartels M, Dearman RJ, Esdaile DJ et al.  
9 A multi-laboratory evaluation of a common in vitro pepsin digestion assay  
10 protocol used in assessing the safety of novel proteins. *Regul. Toxicol.*  
11 *Pharmacol.* (2004) 39:87-98
- 12 49 Walker R and Lupien J.R. The safety evaluation of monosodium glutamate. *J.*  
13 *Nutr.* (2000) 130:1049S-52S
- 14 50 石坂 照子, 山村雄一監修 即時型アレルギーの発症機序 -肥満細胞, 好塩基球  
15 からのヒスタミン遊離の機構-免疫学 中山書店 (1982) :119-129
- 16 51 Metcalfe D D, Astwood J D, Townsend R, Sampson H A, Taylor S T, Fuchs R L.  
17 Assessment of the allergenic potential of foods derived from genetically  
18 engineered crop plants. *Crit Rev Food Sci Nutr.* (1996) 36 (Supp) :S165-S186
- 19 52 Evaluation of allergenicity of genetically modified foods. a joint FAO/WHO  
20 consultation on foods derived from biotechnology, Rome, Italy, (2001) :22-25  
21 [http://www.who.int/foodsafety/publications/biotech/en/ec\\_jan2001.pdf](http://www.who.int/foodsafety/publications/biotech/en/ec_jan2001.pdf)
- 22 53 Hileman R E, Silvanovich A, Goodman RE, Rice EA, Holleschak G, Astwood  
23 JD, et al. Bioinformatic methods for allergenicity assessment using a  
24 comprehensive allergen database. *Int Arch Allergy Immunol.* (2002) 128  
25 (4) :280-291
- 26 54 Kolaskar A S and Kulkarni Kale U. Prediction of three-dimensional structure  
27 and mapping of conformational epitopes of envelope glycoprotein of Japanese  
28 Encephalitis Virus. *Virology*, (1999) 261:31-42
- 29 55 Peter J W. Foam Measurement by the Microconductivity Technique: An  
30 Assessment of Its Sensitivity to Interfacial and Environmental Factors. *Sci.*  
31 (1995) :178: 733-739
- 32 56 国民総人口: 総務省統計局 統計データ「平成18年11月1日現在推計人口」  
33 公開特許公報 特開2001-218590
- 34 58 国民栄養の現状 (平成16年厚生労働省国民健康・栄養調査報告), 10-15, 52-53,  
35 64-65, 72-83, 146-147, 162-163, 238-241, 274-277
- 36 59 食品安全委員会, 遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物の安全性評  
37 価基準, 平成16年3月25日  
38 [http://www.fsc.go.jp/senmon/idensi/gm\\_tenkabutukijun.pdf](http://www.fsc.go.jp/senmon/idensi/gm_tenkabutukijun.pdf)

- 1 60 U.S. Pharmacopeia 28 National Formulary (2005) 23:2858
- 2 61 Behrendt U, Ulrich A, and Schumann P. *Chryseobacterium gregarium* sp.  
3 nov., isolated from decaying plant material. *Int J Syst Evol Microbiol.* (2008)  
4 58:1069-1074
- 5 62 Vaneechoutte M, Kämpfer P, De Baere T, Avesani V, Janssens M and Wauters  
6 G. *Chryseobacterium hominis* sp. nov., to accommodate clinical isolates  
7 biochemically similar to CDC groups II-h and II-c. *Int J Syst Evol Microbiol.*  
8 (2007) 57:2623-2628
- 9 63 池澤善郎, 大砂博之. Latex-Fruits Syndrome. アレルギー. (2002) 51: 591-604
- 10 64 Salcedo G, Daiz-Perales A, and Sanchez-Monge R. The role of plant  
11 panallergens in sensitization to natural rubber latex. *Opin. Allergy Clin.*  
12 *Immunol.* (2001) 1:117-183
- 13 65 Diaz-Perales A, Collada C, Blanco C, Sanchez-Monge R, Carrillo T,  
14 Aragoncillo C, et al. Class I chitinases with hevein-like domain, but not class II  
15 enzymes, are relevant chestnut and avocado allergens. *J Allergy Clin*  
16 *Immunol.* (1998) 102:127-133
- 17 66 Karisola P, Kotovuori A, Poikonen S, Niskanen E, Kalkkinen N, Turjanmaa  
18 K, et al. Isolated hevein-like domains, but not 31-kd endochitinases, are  
19 responsible for IgE-mediated in vitro and in vivo reactions in latex-fruit  
20 syndrome. *J Allergy Clin Immunol.* (2005) 115:598-605
- 21 67 Cooke S K and Sampson H A. Allergenic properties of ovomucoid in man. *J*  
22 *Immunol.* (1997) 159:2026-2032
- 23 68 Besler M, Peterson A, Steinhart H, and Paschke A. Identification of  
24 IgE-Binding Peptides Derived from Chemical and Enzymatic Cleavage of  
25 Ovomucoid (Gal d 1) . *Internet Symposium on Food Allergens* (1999) 1:1-12
- 26 69 Mine Y and Zhang J W. Identification and fine mapping of IgG and IgE  
27 epitopes in ovomucoid. *Biochem Biophys Res Commun.* (2002) 292:1070-1074
- 28 70 Banerjee, B, Kurup V P, Greenberger P A, Johnson B D, and Fink J N. Cloning  
29 and expression of *Aspergillus fumigatus* allergen Asp f 16 mediating both  
30 humoral and cell-mediated immunity in allergic bronchopulmonary  
31 aspergillosis (ABPA). *Clinical Experimental Allergy,* (2001) 31:761-770